

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

KISHIMOTO, Einosuke
Inaba Building, 3rd Floor
13-18, Nishishinsaibashi 1-chome
Chuo-ku
Osaka-shi
Osaka 542-0086
JAPON



Date of mailing (day/month/year) 20 July 2000 (20.07.00)		
Applicant's or agent's file reference Q-9		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/JP00/00095	International filing date (day/month/year) 12 January 2000 (12.01.00)	
Priority date (day/month/year) 12 January 1999 (12.01.99)		
Applicant SANTEN PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
CN,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:
CA,EP,NO

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
20 July 2000 (20.07.00) under No. WO 00/41729

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C. 20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing:

20 July 2000 (20.07.00)

International application No.:

PCT/JP00/00095

Applicant's or agent's file reference:

Q-9

International filing date:

12 January 2000 (12.01.00)

Priority date:

12 January 1999 (12.01.99)

Applicant:

NISHIDA, Teruo et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

12 April 2000 (12.04.00)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was



was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)



PCT

特許協定条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類7 A61K 45/00, 31/661, A61P 27/00, C07F 9/09</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/41729</p> <p>(43) 国際公開日 2000年7月20日(20.07.00)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP00/00095</p> <p>(22) 国際出願日 2000年1月12日(12.01.00)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平11/5420 1999年1月12日(12.01.99) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 参天製薬株式会社 (SANTEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.)(JP/JP) 〒533-8651 大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号 Osaka, (JP)</p> <p>(71) 出願人 ; および</p> <p>(72) 発明者 西田輝夫(NISHIDA, Teruo)(JP/JP) 〒750-0151 山口県宇部市大字西岐波396番地の2 Yamaguchi, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 中田勝彦(NAKATA, Katsuhiko)(JP/JP) 〒633-0072 奈良県桜井市大字箸中531番地の1 Nara, (JP) 、 中村雅胤(NAKAMURA, Masatsugu)(JP/JP) 〒631-0074 奈良県奈良市三松2丁目12番3-205号 Nara, (JP)</p>		<p>(74) 代理人 弁理士 岸本瑛之助, 外(KISHIMOTO, Einosuke et al.) 〒542-0086 大阪府大阪市中央区西心斎橋1丁目13番18号 イナバビル3階 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 CA, CN, KR, NO, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54)Title: REMEDIES FOR CORNEAL DISORDERS</p> <p>(54)発明の名称 角膜障害治療剤</p> <p>(57) Abstract Remedies for corneal disorders which contain as the active ingredient compounds having an effect of activating Rho (for example, corneal epithelium extension promoters). The compounds having the effect of activating Rho are exemplified by lysophosphatidic acid and acyl derivatives thereof. The corneal disorders are exemplified by a corneal ulcer, corneal epithelium scraping, comeitis and dry eye.</p>		

THIS PAGE BLANK (USPTO)



(51) 国際特許分類7 A61K 45/00, 31/661, A61P 27/00, C07F 9/09	A1	(11) 国際公開番号 WO00/41729 (43) 国際公開日 2000年7月20日(20.07.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP00/00095 (22) 国際出願日 2000年1月12日(12.01.00) (30) 優先権データ 特願平11/5420 1999年1月12日(12.01.99) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 参天製薬株式会社 (SANTEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.)(JP/JP) 〒533-8651 大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号 Osaka, (JP) (71) 出願人 ; および (72) 発明者 西田輝夫(NISHIDA, Teruo)(JP/JP) 〒750-0151 山口県宇部市大字西岐波396番地の2 Yamaguchi, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 中田勝彦(NAKATA, Katsuhiko)(JP/JP) 〒633-0072 奈良県桜井市大字箸中531番地の1 Nara, (JP) 中村雅胤(NAKAMURA, Masatsugu)(JP/JP) 〒631-0074 奈良県奈良市三松2丁目12番3-205号 Nara, (JP)	(74) 代理人 弁理士 岸本瑛之助, 外(KISHIMOTO, Einosuke et al.) 〒542-0086 大阪府大阪市中央区西心斎橋1丁目13番18号 イナバビル3階 Osaka, (JP) (81) 指定国 CA, CN, KR, NO, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE) 添付公開書類 国際調査報告書	
(54)Title: REMEDIES FOR CORNEAL DISORDERS (54)発明の名称 角膜障害治療剤 (57) Abstract Remedies for corneal disorders which contain as the active ingredient compounds having an effect of activating Rho (for example, corneal epithelium extension promoters). The compounds having the effect of activating Rho are exemplified by lysophatidic acid and acyl derivatives thereof. The corneal disorders are exemplified by a corneal ulcer, corneal epithelium scraping, corneitis and dry eye.		

(57)要約

本発明は、R h o 活性化作用を有する化合物を有効成分とする角膜障害治療剤、たとえば角膜上皮伸展促進剤を提供するものである。R h o 活性化作用を有する化合物は、たとえばリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体である。角膜障害は、たとえば角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎、ドライアイである。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LS	レソト	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LT	リトアニア	SL	スロヴァニア
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LV	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	MA	モロッコ	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MC	モナコ	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MD	モルドヴァ	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MG	マダガスカル	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GN	ギニア	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GR	ギリシャ		共和国	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	GW	ギニア・ビサオ	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HR	クロアチア	MN	モンゴル	TZ	タンザニア
CC	中央アフリカ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UG	ウガンダ
CH	スイス	IL	イスラエル	MX	メキシコ	US	米国
CI	コートジボアール	IN	インド	MZ	モザンビーク	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IS	アイスランド	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CN	中国	IT	イタリア	NL	オランダ	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	JP	日本	NO	ノルウェー	ZA	南アフリカ共和国
CU	キューバ	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CY	キプロス	KG	キルギスタン	PL	ポーランド		
CZ	チェッコ	KP	北朝鮮	PT	ポルトガル		
DE	ドイツ	KR	韓国	RO	ルーマニア		
DK	デンマーク						

明 細 書

角膜障害治療剤

5 技術分野

本発明はリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体等の R h o 活性化作用を有する化合物を有効成分とした、角膜上皮伸展の促進作用を有する角膜障害治療剤に関するものである。

10

背景技術

角膜は直径約 1 c m、厚さ約 1 m m の透明な無血管の組織である。角膜の透明性は視機能に重要な影響を与えており、角膜における種々の生理生化学的現象は、主として角膜の透
15 明性の維持ということを目的として機能している。

角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎またはドライアイ等の種々の疾患により引き起こされた角膜上皮欠損は、混合感染の併発がなければ自然に修復する。しかし、何らかの理由で修復が遅延したりあるいは修復が行われずに上皮欠損が遷延化
20 すると、上皮の正常な構築に悪影響を与えるのみならず、実質や内皮の構造や機能まで害される。従来からの治療法の原理は、外界の刺激から角膜表面を保護することにより自然に上皮が伸展して欠損部の再被覆をはかるという受動的なものである。近年、細胞生物学の発展に伴い、細胞の分裂・移動
25 ・接着・伸展等に関与する因子が解明されており、角膜上皮欠損の修復には、角膜上皮の伸展を促進する化合物が重要な役割を担うことが報告されている（臨眼，46，738-743（1992）、眼科手術，5，719-727（1992））。

ところで、細胞は外界シグナルに応答して、細胞骨格や細胞接着装置をダイナミックに変化させて外界環境に適応させる。細胞骨格を形成する主要構成成分は、アクチン等からなるマイクロフィラメント、チューブリン等からなる微小管、
5 ケラチン等からなる中間径フィラメントの3種類の線維構造である。これらは互いに密接に関係しながら、細胞接着、細胞形態、細胞質分裂、細胞の極性形成等の高次機能を担っている。

このうち、アクチン-マイクロフィラメント系の細胞骨格
10 を制御していると考えられているのが、低分子量GTP結合タンパクのサブファミリーの1つであるRhoファミリーである。Rhoファミリーは、Rho、Rac、Cdc42等のメンバーから構成されており、細胞増殖因子等の細胞外シグナルの下流で作用している。最近、Rhoに特異的な標的
15 タンパクが同定され、細胞骨格と接着の制御機構（実験医学，
16, 1782-1788（1998））や細胞運動の制御機構（実験医学，
16, 2032-2039（1998））等、細胞現象の制御メカニズムが明らかにされつつある。

一方、Rhoを特異的に活性化させる化合物としてリゾホ
20 スファチジン酸またはそのアシル誘導体が知られている（Cell, 70, 389-399（1992））。リゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体についてはさまざまな作用が報告されている。例えば、細胞とフィブロネクチンの結合を促進して細胞形態を調節すること（J. Cell Biol., 127, 1447-1459（1994））、
25 皮膚創傷時におけるフィブロネクチンの上皮細胞および内皮細胞への結合を促進すること（アメリカ特許5480877号明細書）、グリコサミノグリカン産生促進作用を有する皮膚活性化剤であり、化粧品および皮膚老化防止外用剤として

有用であること（国際特許公開W O 9 5 / 3 5 0 9 0 号公報）、乾癬などで生じる上皮細胞の過増殖を抑制すること（アメリカ特許 5 5 6 5 4 3 9 号明細書）、マクロファージを活性化し腫瘍における細胞壊死を抑制すること（アメリカ特許 5 1 4 9 5 2 7 号明細書）、アポトーシスを阻害し細胞の機能を維持または回復すること（国際特許公開W O 9 8 / 4 1 2 1 3 号公報）等がある。

眼科領域においては、網膜色素上皮細胞の増殖を促進すること（Curr. Eye Res., 16, 698-702 (1997)）、培養水晶体
10 上皮細胞においてC a イオンの流入を促進すること（Cell. Signal., 9, 609-616 (1997)）、角膜障害時に房水中のリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体の量が増加することおよび正常な角膜実質細胞の増殖を促進すること（Am. J. Physiol., 274, C1065-C1074 (1998)）等が報告されている。

15 しかしながら、R h o と角膜上皮細胞との関係については報告されておらず、角膜上皮欠損の修復と深い関係がある角膜上皮の移動機構に対するR h o 活性化作用を有する化合物の効果は無論知られていない。

20 上記のように、細胞現象の制御メカニズムに関与する低分子量G T P 結合タンパクであるR h o の角膜上皮の移動機構への関与の研究を通じて、R h o 活性化作用を有する化合物の角膜障害に対する作用、特に角膜上皮伸展に対する作用を調べることは非常に興味ある課題であった。

25

本発明者等はR h o の角膜上皮の移動機構への関与を検討するために、まずR h o 阻害剤の角膜上皮に及ぼす影響を検討した。その結果、R h o 阻害剤によって角膜上皮の伸展は

完全に抑制され、角膜上皮の移動機構には低分子量 G T P 結合タンパクである R h o による細胞内骨格系タンパクの制御が関与していることが明らかとなった。

次に、R h o 活性化作用を有する化合物の角膜上皮に対する効果を検討したところ、優れた角膜上皮伸展に対する促進作用を有することを見いだした。

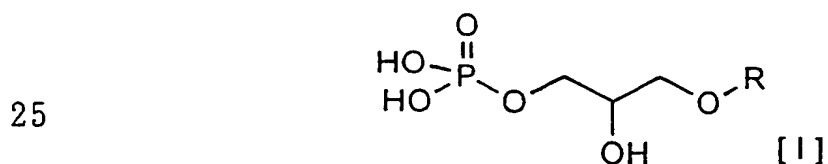
さらに、R h o 活性化作用を有する化合物と R h o 阻害剤を併用したところ、上記の角膜上皮伸展の促進はほぼ完全に抑制され、角膜上皮伸展に対する促進作用は、R h o 活性化作用に基づくものであることが確認された。

以上のことから、R h o 活性化作用を有する化合物が優れた角膜上皮伸展促進作用を有し、種々の要因により角膜が損傷を受けた状態にある角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎またはドライアイ等の角膜障害の治療剤として有用であることが明らかとなった。

発明の開示

本発明における R h o 活性化作用を有する化合物とは、R h o が関与している細胞現象の制御メカニズムを亢進させる化合物を示す。

本発明におけるリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体とは下記一般式 [I] で表わされる化合物を示す。



[式中、R は水素原子またはアシル基を示す。]

本発明におけるアシル基とは、飽和もしくは不飽和の脂肪

族カルボニル基または芳香族カルボニル基を示すが、好ましくは飽和もしくは不飽和の脂肪族カルボニル基で、より好ましくは炭素数 6 以上の高級脂肪族カルボニル基で、特に好ましい例はオレオイル基およびステアロイル基である。

- 5 本発明における角膜障害とは、種々の要因により角膜が損傷を受けた状態にある角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎、ドライアイ等をいう。

R h o の角膜上皮の移動機構への関与を検討すべく、R h o 阻害剤ならびに R h o 活性化作用を有する化合物の角膜上皮
10 皮に対する作用を検討した。詳細については後述の薬理試験の項で示すが、R h o 阻害剤として知られているボツリヌス菌の菌体外酵素である C 3 酵素（以下、Exoenzyme C3 とする）（Cell, 70, 389-399 (1992)）によって角膜上皮の伸展はほぼ完全に抑制されることを認めた。

- 15 このことから、角膜上皮の移動機構には低分子量 G T P 結合タンパクである R h o が関与していることが明らかとなった。

次に、R h o 活性化作用を有する化合物の代表的な化合物であるリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体の角膜上皮伸展に対する効果を検討したところ、リゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体が角膜片の組織培養系における
20 角膜上皮の伸展を促進することを見いだした。さらに、この角膜上皮伸展促進作用は Exoenzyme C3 によってほぼ完全に抑制されることが認められ、リゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体の有する角膜上皮伸展促進作用は R h o 活性化作用に基づくものであることが確認された。これらのこと
25 から、R h o 活性化作用を有する化合物は、優れた角膜上皮伸展促進作用を有し、角膜障害、すなわち種々の要因により角膜が損傷を受けた状態にある角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角

膜炎、ドライアイ等の治療に有用であることが明らかとなった。

R h o 活性化作用を有する化合物は、経口でも、非経口でも投与することができる。投与剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、注射剤、点眼剤等が挙げられ、特に点眼剤が好ましい。これらは汎用されている技術を用いて製剤化することができる。例えば、点眼剤は、塩化ナトリウム、濃グリセリン等の等張化剤、リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等の緩衝化剤、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート、ステアリン酸ポリオキシシル 40、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等の界面活性剤、クエン酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム等の安定化剤、塩化ベンザルコニウム、パラベン等の防腐剤等を必要に応じて用い調製することができる。p H は眼科製剤に許容される範囲内にあればよいが、4 ~ 8 の範囲が好ましい。眼軟膏は、白色ワセリン、流動パラフィン等の汎用される基剤を用いて調製することができる。また、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤等の経口剤は、乳糖、結晶セルロース、デンプン、植物油等の増量剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン等の結合剤、カルボキシメチルセルロース、カルシウム、低置換ヒドロキシプロピルメチルセルロース等の崩壊剤、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、マクロゴール、シリコン樹脂等のコーティング剤、ゼラチン皮膜等の皮膜剤などを必要に応じて加えて調製することができる。

投与量は症状、年令、剤型等によって適宜選択できるが、点眼剤であれば 0.0001 ~ 1% (w/v)、好ましくは 0.001 ~ 1% (w/v) のものを 1 日 1 ~ 数回点眼すれ

ばよい。また、経口剤であれば通常1日当たり0.1～5000mg、好ましくは1～1000mgを1回または数回に分けて投与すればよい。

以下に、製剤例および薬理試験の結果を示すが、これらの例は本発明をよりよく理解するためのものであり、本発明の範囲を限定するものではない。

発明を実施するための最良の形態

[製剤例]

10 Rh o活性化作用を有する化合物としてオレオイル リゾホスファチジン酸（以下、オレオイルLPAという）を用いた代表的な製剤例を以下に示す。

1. 点眼剤

以下の処方の点眼剤を汎用される方法を用いて調製した。

15 処方例1（点眼液）

100ml中

オレオイルLPA 1mg

塩化ナトリウム 900mg

水酸化ナトリウム 適量

20 塩酸 適量

滅菌精製水 適量

処方例1と同様にして、必要に応じて界面活性剤や安定化剤を加えて、オレオイルLPAを100ml中5mg、10
25 mg、50mg、100mg、500mg、1000mg含有する点眼液を調製することができる。

処方例 2 (眼軟膏)

1 0 0 g 中

オレオイル L P A

1 0 0 m g

白色ワセリン

9 0 g

5

流動パラフィン

適量

処方例 2 と同様にして、オレオイル L P A を 1 m g、5 m g、1 0 m g、5 0 m g 含有する眼軟膏を調製することができる。

10

処方例 3 (錠剤)

1 0 0 m g 中

オレオイル L P A

1 0 m g

乳糖

5 9 . 4 m g

15

トウモロコシデンプン

2 0 m g

カルボキシメチルセルロース カルシウム 6 m g

ヒドロキシプロピルセルロース 4 m g

ステアリン酸 マグネシウム 0 . 6 m g

20 上記処方の錠剤に、ヒドロキシプロピルセルロース等のコーティング剤 2 m g を用いてコーティングを施し、目的とするコーティング錠を得ることができる。

25 処方例 3 と同様にして、オレオイル L P A を 1 0 0 m g 中 0 . 1 m g、0 . 5 m g、1 m g、5 m g、5 0 m g 含有する錠剤を得ることができる。

[薬理試験]

角膜上皮伸展に対する作用 (in vitro)

雄性日本白色ウサギの角膜を用い、Nishida らの方法 (J. Cell Biol., 97, 1653-1657 (1983)) に準じ、角膜片の組織培養系での角膜上皮伸展長を指標にして角膜上皮伸展に対する下記被験化合物の影響を検討した。

5 (実験方法)

ウサギ角膜片より切り出した角膜ブロックを、被験化合物を含む培養液 (TC-199) 中、 37°C ・ $5\% \text{CO}_2$ の条件下で24時間培養した。培養後、角膜ブロックをエタノール-氷酢酸 (容積比 95 : 5) 混合液中で固定し、パラフィンで包埋して切片を作製した。切片を脱パラフィンした後、ヘマトキシリン-エオジン染色し、顕微鏡下で上皮細胞層の伸展長を測定した。

コントロールとしては被験化合物を含まない培養液で同様に培養したものを用いた。

15 (結果 1)

Rh o 阻害剤である Exoenzyme C3 を被験化合物として含む培養液で培養したときの結果を表 1 に示す。

表 1

20		伸展長 (μm)
	コントロール	454
	Exoenzyme C3 ($2 \mu\text{g} / \text{ml}$)	186

(表中のデータは 6 例の平均値)

表 1 から判るように、Rh o 阻害剤である Exoenzyme C3 を含む培養液で培養をすると、角膜上皮の伸展はほぼ完全に抑制され、角膜上皮伸展に Rh o が関与していることが明らかとなった。

(結果 2)

$0.02 \mu\text{M}$ 、 $0.2 \mu\text{M}$ および $2 \mu\text{M}$ の濃度のオレオイ

ル L P A を被験化合物として含む培養液で培養したときの結果を表 2 に示す。

表 2

5		伸展長 (μ m)
	コントロール	4 5 4
	オレオイル L P A (0 . 0 2 μ M)	5 2 8
	(0 . 2 μ M)	6 5 8
	(2 μ M)	7 1 2

(表中のデータは 6 例の平均値)

- 10 表 2 から判るように、オレオイル L P A を含む培養液で培養をすると、角膜上皮の伸展が濃度依存的に顕著に促進されることが認められた。

(結果 3)

- 15 被験化合物として Exoenzyme C3 をオレオイル L P A とともに培養液に添加したときの結果を表 3 に示す。

表 3

20		伸展長 (μ m)
	コントロール	4 5 4
	Exoenzyme C3 (2 μ g / m l)	
	+ オレオイル L P A (0 . 0 2 μ M)	1 8 5
	+ オレオイル L P A (0 . 2 μ M)	1 8 2
	+ オレオイル L P A (2 μ M)	1 9 8

(表中のデータは 6 例の平均値)

- 25 表 3 から判るように、R h o 阻害剤である Exoenzyme C3 をオレオイル L P A とともに培養液に添加すると、角膜上皮の伸展はほぼ完全に抑制された。

これらのことから、角膜上皮伸展促進作用は R h o の活性化作用に基づくものであることが確認された。

上記の薬理試験から、R h o 活性化作用を有する化合物が優れた角膜上皮伸展促進作用を有し、角膜上皮の創傷治癒促進作用を通じて、種々の要因により角膜が損傷を受けた状態にある角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎またはドライアイ等の角膜障害の治療剤として有用であることが見いだされた。

産業上の利用可能性

本発明は、R h o 活性化作用を有する化合物を有効成分とする角膜障害治療剤、たとえば角膜上皮伸展促進剤に関するものである。

15

20

25

請求の範囲

1. R h o 活性化作用を有する化合物を有効成分とする角膜障害治療剤。
- 5
2. R h o 活性化作用を有する化合物がリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体である請求項 1 記載の角膜障害治療剤。
- 10
3. リゾホスファチジン酸のアシル誘導体がオレオイルリゾホスファチジン酸である請求項 2 記載の角膜障害治療剤。
- 15
4. 角膜障害が角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎またはドライアイである請求項 1 から請求項 3 のいずれかに記載の角膜障害治療剤。
- 20
5. R h o 活性化作用を有する化合物を有効成分とする角膜上皮伸展促進剤。

25

25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00095

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K45/00, A61K31/661, A61P27/00, C07F9/09

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K45/00, A61K31/661, A61P27/00, C07F9/09

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN) , MEDLINE (STN) , BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LILIOM, K., et al., 'Growth factor-like phospholipids generated after corneal injury' Am. J. Phys., 1998, Vol.274, 4 Pt 1, p.C1065-74, cited in the present application, see abstract, page C1073, right column, Par. Nos. 2-3	1 - 5
X Y	SUNDARRAJ, N., et al., 'A Rho-associated protein kinase: differentially distributed in limbal and corneal epithelia' Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1998, Vol.39, No.7, p.1266-72, Discussion (especially, see page 1270, right column, lines 27-33; page 1271, right column, lines 12-15)	1, 2, 4, 5 3
Y	CHYZANOWSKA-WODNICKA, M., et al., 'Rho-stimulated contractility drives the formation of stress fibers and focal adhesions' J. Cell Biol., 1996, Vol.133, No.6, p.1403-15, see page 1403, right column, line 13 to page 1404, left column, line 28	1 - 5
A	SUNDARRAJ, M., et al., 'Nuclear translocation of a Rho-A binding serine/threonine kinase (ROCK-I) is associated with corneal epithelial proliferation in vitro'	1 - 5

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 07 March, 2000 (07.03.00)	Date of mailing of the international search report 21 March, 2000 (21.03.00)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00095

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	Investigative Ophthalmology and Visual Sciences, 1998, Vol.39, No.4, p. S201, Full text	

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. ⁷ A 61 K 45/00, A 61 K 31/661, A 61 P 27/00, C 07 F 9/09

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. ⁷ A 61 K 45/00, A 61 K 31/661, A 61 P 27/00, C 07 F 9/09

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	LILIOM, K., et al., 'Growth factor-like phospholipids generated after corneal injury' Am. J. Phys., 1998, Vol. 274, 4 Pt 1, p. C1065-74, 本願中に引用, 要約及び第C1073頁右欄第2-3段落参照	1 - 5
X Y	SUNDARRAJ, N., et al., 'A Rho-associated protein kinase: differentially distributed in limbal and corneal epithelia' Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1998, Vol. 39, No. 7, p. 1266-72, Discussion (特に第1270頁右欄第27-33行及び第1271頁右欄第12-15行) 参照	1, 2, 4, 5 3

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07.03.00

国際調査報告の発送日

21.03.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

大宅 郁治



4C

9639

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	CHRZANOWSKA-WODNICKA, M., et al., 'Rho-stimulated contractility drives the formation of stress fibers and focal adhesions' J. Cell Biol., 1996, Vol.133, No.6, p.1403-15, 第1403頁右欄第13行-第1404頁左欄第28行参照	1 - 5
A	SUNDARRAJ, M., et al., 'Nuclear translocation of a Rho-A binding serine/threonine kinase (ROCK-I) is associated with corneal epithelial proliferation in vitro' Investigative Ophthalmology and Visual Sciences, 1998, Vol.39, No.4, p.S201, 全文参照	1 - 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00095

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K45/00, A61K31/661, A61P27/00, C07F9/09

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K45/00, A61K31/661, A61P27/00, C07F9/09

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN) , MEDLINE (STN) , BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LILIOM, K., et al., 'Growth factor-like phospholipids generated after corneal injury' Am. J. Phys., 1998, Vol.274, 4 Pt 1, p.C1065-74, cited in the present application, see abstract, page C1073, right column, Par. Nos. 2-3	1 - 5
X Y	SUNDARRAJ, N., et al., 'A Rho-associated protein kinase: differentially distributed in limbal and corneal epithelia' Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1998, Vol.39, No.7, p.1266-72, Discussion (especially, see page 1270, right column, lines 27-33; page 1271, right column, lines 12-15)	1, 2, 4, 5 3
Y	CHRZANOWSKA-WODNICKA, M., et al., 'Rho-stimulated contractility drives the formation of stress fibers and focal adhesions' J. Cell Biol., 1996, Vol.133, No.6, p.1403-15, see page 1403, right column, line 13 to page 1404, left column, line 28	1 - 5
A	SUNDARRAJ, M., et al., 'Nuclear translocation of a Rho-A binding serine/threonine kinase (ROCK-I) is associated with corneal epithelial proliferation in vitro'	1 - 5

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
07 March, 2000 (07.03.00)Date of mailing of the international search report
21 March, 2000 (21.03.00)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00095

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	Investigative Ophthalmology and Visual Sciences, 1998, Vol.39, No.4, p. S201, Full text	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

6T
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference Q-9	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/00095	International filing date (day/month/year) 12 January 2000 (12.01.00)	Priority date (day/month/year) 12 January 1999 (12.01.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 45/00, 31/661, A61P 27/00, C07F 9/09		
Applicant SANTEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 12 April 2000 (12.04.00)	Date of completion of this report 05 October 2000 (05.10.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/00095

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/00095

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims		YES
	Claims	1-5	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-5	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-5	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

(Documents cited in the ISR)

Document 1: Growth factor-like phospholipids generated after corneal injury, (LILIOM, K., et al.), Am. J. Phys., 1998, Vol. 274, 4 Pt. 1, pages C1065-74

Document 2: A Rho-associated protein kinase: differentially distributed in limbal and corneal epithelia, (SUNDARRAJ, N., et al.), Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1998, Vol. 39, No. 7, pages 1266-72

Document 3: Rho-stimulated contractility drives the formation of stress fibers and focal adhesions, (CHRZANOWSKA-WODNICKA, M., et al.), J. Cell Biol., 1996, Vol. 133, No. 6, pages 1403-15

(Explanation)

Document 1 discloses the fact that lysophosphatidic acid (LPA) and related compounds promote the regeneration of cells in damaged corneas. The part where regeneration of cells occurs includes the corneal epithelium (see page C1072, right column, paragraph 1), and the above-mentioned 'LPA and related compounds' includes oleoyl-LPA (see Table 3).

The subject matter of claims 1-5 is thus considered not to be novel.

Moreover, document 2 discloses the fact that ROCK-I, which is a kinase that activates Rho, promotes the differentiation, maintenance, wound healing and development of corneal epithelial cells, this being by means of a signaling pathway that goes via Rho.

The subject matter of claims 1, 2, 4 and 5 is thus considered not to be novel.

Furthermore, document 3 discloses the fact that LPA activates Rho, and so it is considered that using LPA in place of ROCK-I would be obvious to a person skilled in the art.

The subject matter of claim 3 is thus considered not to involve an inventive step.

The subject matter of claims 1-5 is all considered to have industrial applicability.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/00095

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

(Concerning claims 1, 5)

The only specific example of a 'Rho-activating compound' disclosed in the detailed explanation of the inventions is LPA. It is not specified in the description what other such compounds exist, nor is this considered to be well known to persons skilled in the art.

The subject matter of claims 1 and 5 is thus considered to be unclear on account of the expression 'Rho-activating compound'.

Moreover, there are also no disclosures concerning methods for obtaining Rho-activating compounds other than LPA, nor is it considered that such methods are well known to persons skilled in the art.

The subject matter of claims 1 and 5 is thus considered to be insufficiently backed up.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

7T

特 許 協 力 条 約

PCT

REC'D 20 OCT 2000

WIPO

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
〔PCT36条及びPCT規則70〕

出願人又は代理人 の書類記号	Q-9	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/00095	国際出願日 (日.月.年) 12.01.00	優先日 (日.月.年) 12.01.99	
国際特許分類 (IPC) Int. Cl. 7 A61K45/00, A61K31/661, A61P27/00, C07F9/09			
出願人 (氏名又は名称) 参天製薬株式会社			

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>4</u> ページからなる。 <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で _____ ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input checked="" type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 12.04.00	国際予備審査報告を作成した日 05.10.00		
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 新留 豊	4C	9639
電話番号 03-3581-1101 内線 3452			

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (1998年7月)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT 19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-5	無
進歩性(IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-5	無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-5	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

(国際調査報告に引用された文献)

文献1: LILIOM, K., et al., 'Growth factor-like phospholipids generated after corneal injury'
Am. J. Phys., 1998, Vol. 274, 4 Pt 1, p. C1065-74

文献2: SUNDARRAJ, N., et al., 'A Rho-associated protein kinase: differentially distributed in limbal and corneal epithelia'
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1998, Vol. 39, No. 7, p. 1266-72,

文献3: CHRZANOWSKA-WODNICKA, M., et al., 'Rho-stimulated contractility drives the formation of stress fibers and focal adhesions'
J. Cell Biol., 1996, Vol. 133, No. 6, p. 1403-15

(説明)

文献1には、リゾホスファチジン酸(lysophosphatidic acid, LPA)またはその類縁体が、障害を受けた角膜において、細胞の再生(regeneration)を促進することが記載されている。細胞の再生部位として、角膜上皮(corneal epithelium)も含まれており(第C1072頁右欄第1段落参照)、また、上記リゾホスファチジン酸には、オレオイルリゾホスファチジン酸(oleoyl-LPA)が含まれる(「Table 3」参照)。

したがって、請求の範囲1-5に係る発明は、新規性を有さない。

また、文献2には、Rhoを活性化するキナーゼ(kinase)であるROCK-Iが、Rhoを介したシグナル経路(signaling pathway)により、角膜上皮細胞の分化(differentiation)、維持(maintenance)、傷害治療(wound healing)及び発育(development)を促進することが記載されている。

したがって、請求の範囲1, 2, 4, 5に係る発明は、新規性を有さない。

さらに、文献3には、リゾホスファチジン酸がRhoを活性化することが記載されているから、ROCK-Iに代えてリゾホスファチジン酸を用いることも、当業者に自明の事項である。

したがって、請求の範囲3に係る発明は進歩性を有さない。

請求の範囲1-5に係る発明は、産業上の利用可能性を有する。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Ⅶ. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

(請求の範囲 1 および 5 について)

「R h o 活性化化合物」として、発明の詳細な説明にはリゾホスファチジン酸しか具体的に記載されていない。それ以外にどのような化合物が存在するのか、明細書には明示されておらず、また当業者に周知のものであるとも認められない。

よって、上記表現により請求の範囲 1 及び 5 が不明確である。

さらに、リゾホスファチジン酸以外の R h o 活性化化合物の入手方法についても開示されておらず、また当業者に周知でもない。

よって、請求の範囲 1 及び 5 の裏付けも不十分である。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

E P



P C T

国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)
〔PCT 18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 Q-9	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/00095	国際出願日 (日.月.年) 12.01.00	優先日 (日.月.年) 12.01.99
出願人 (氏名又は名称) 参天製薬株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (PCT 18条) の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 (PCT規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K45/00, A61K31/661, A61P27/00, C07F9/09

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K45/00, A61K31/661, A61P27/00, C07F9/09

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	LILIOM, K., et al., 'Growth factor-like phospholipids generated after corneal injury' Am. J. Phys., 1998, Vol. 274, 4 Pt 1, p. C1065-74, 本願中に引用, 要約及び第C1073頁右欄第2-3段落参照	1 - 5
X Y	SUNDARRAJ, N., et al., 'A Rho-associated protein kinase: differentially distributed in limbal and corneal epithelia' Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1998, Vol. 39, No. 7, p. 1266-72, Discussion (特に第1270頁右欄第27-33行及び第1271頁右欄第12-15行) 参照	1, 2, 4, 5 3

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07.03.00

国際調査報告の発送日

21.03.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

大宅 郁治



4C

9639

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	CHRZANOWSKA-WODNICKA, M., et al., 'Rho-stimulated contractility drives the formation of stress fibers and focal adhesions' J. Cell Biol., 1996, Vol. 133, No. 6, p. 1403-15, 第1403頁右欄第13行-第1404頁左欄第28行参照	1 - 5
A	SUNDARRAJ, M., et al., 'Nuclear translocation of a Rho-A binding serine/threonine kinase (ROCK-I) is associated with corneal epithelial proliferation in vitro' Investigative Ophthalmology and Visual Sciences, 1998, Vol. 39, No. 4, p. S201, 全文参照	1 - 5

THIS PAGE BLANK (USPTO)